

# Атомно-силовое микроскопическое исследование поверхности эмали резцов

В.Д. ГОНЧАРОВ\*, д.т.н., профессор

А.А. ЛУКАВЕНКО\*\*, к.м.н., доцент

Л.Ю. ОРЕХОВА\*\*, д.м.н., профессор, зав. кафедрой

А.В. ЛУКАВЕНКО\*\*, к.м.н., доцент

Н.С. НАРУШАК\*\*, аспирант

А.И. ЕРИСКОВСКАЯ\*, студент

\*ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет ЛЭТИ» им. В. И. Ульянова (Ленина), лаборатория «Импульсные Электротехнологии»

\*\*Кафедра стоматологии терапевтической и пародонтологии

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава РФ

## Atomic-force microscopic examination of the enamel surface of incisors

V.D. GONCHAROV, A.A. LUKAVENKO, L. Yu. OREKHOVA, A.V. LUKAVENKO, N.S. NARUSHAK, A.I. ERISKOVSKEYA

### Резюме

Поверхность эмали резцов является важнейшей зоной адгезии микроорганизмов и последующего возникновения воспалительных заболеваний пародонта. Современным методом исследования твердых тканей зубов является атомно-силовая микроскопия. Данный метод позволяет определить и измерить неоднородности эмали с точностью до нескольких микрометров. В статье приводятся данные о типах и размерах неоднородностей эмали вестибулярных, язычных и контактных поверхностей резцов.

**Ключевые слова:** атомно-силовая микроскопия, эмаль резцов, неоднородности поверхности, факторы адгезии микроорганизмов, воспалительные заболевания пародонта.

### Abstract

The surface of the enamel of the incisors is an important zone in the adhesion of microorganisms and the subsequent occurrence of inflammatory periodontal diseases. The modern method of studying hard tissues of teeth is atomic force microscopy. This method allows to determine and measure the heterogeneity of enamel with an accuracy of several micrometers. The article contains data on the types and sizes of inhomogeneities in the enamel of the vestibular, lingual and contact surfaces of incisors.

**Key words:** atomic force microscopy, enamel of incisors, surface heterogeneity, adhesion factors of microorganisms, inflammatory periodontal diseases.

### ВВЕДЕНИЕ

Постоянное совершенствование технических средств и появление новых клинических и лабораторных методов исследования позволяют глубже и точнее изучать различные структуры, клетки, ткани человеческого организма [6, 7]. Несмотря на достаточно большое количество материала о строении эмали и дентина [2, 5], сохраняется потребность дальнейшего изучения строения и функций этих тканей с целью установления как возможностей развития патологических процессов в них, так и влияния на другие ткани и органы.

Высокая распространенность кариеса и воспалительных заболеваний пародонта у различных возрастных групп [4, 8, 9] создают необходимость более тщательного изучения строения твердых тканей зубов с целью дальнейшего совершенствования лечебно-диагностического процесса и создания новых профилактических программ. Одним из таких методов исследования является атомно-силовая микроскопия [3].

Ранее в наших работах было показано (Гончаров В.Д., Орехова Л.Ю., Лукавенко А.А. и др., 2018), что эмаль зубов имеет различия в зависимости от анатомической формы и групповой принадлежности, а также заложена база определения критериев отличительных признаков строения эмали зубов.

В настоящей работе будут представлены результаты исследования только одной группы зубов — резцов. Эта группа зубов представляет особый интерес для практиков, так как играет важнейшую эстетическую, фонетическую и функциональную роль.

### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение поверхности эмали резцов, определение типичных размеров и характера неоднородностей на различных поверхностях эмали резцов, установление зон риска для возможной адгезии микроорганизмов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для изучения поверхностей эмали различных групп зубов применялся метод атомно-силовой микроскопии (АСМ). АСМ-исследование проводилось при помощи сканирующего зондового микроскопа Curtus Light (NanoScan Technology, Россия). Подробное описание методики подготовки образцов, процесс их сканирования и методов математической обработки полученной информации приведено в статье [8]. В ходе работ были изучены различные поверхности резцов ( $n = 6$ ). Для каждой из них выбирались зоны ( $n = 4$ ), в которых осуществлялось сканирование. Ниже приведены типичные результаты, наблюдавшиеся в большинстве исследованных образцов. В случае, когда интересует общая картина исследуемой поверхности, результаты приводятся при разрешении 100 на 100 мкм или 50 на 50 мкм. В случае, когда интересуют детали структур, — 10 на 10 или 25 на 25 мкм. В приведенных двумерных распределениях относительная высота неоднородностей выражена оттенками серого. Конкретные значения этой высоты можно определить путем сравнения с данными, приведенными на линейке справа.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Рассмотрим результаты сканирования вестибулярной поверхности резцов (рис. 1). Область сканирования была выбрана на расстоянии 4 мм от режущего края зуба. Поверхность эмали преимущественно ровная (1 на рис. 1) с отдельными неглубокими бороздами шириной до 2 мкм и глубиной 50–100 нм (2 на рис. 1). Борозды располагались под разными углами, некоторые из них были параллельны друг другу. Перепад высот на ровных участках поверхности эмали резца не превышал 50–150 нм при максимальном разрешении сканирования (рис. 2а). При исследовании участка размером 5 на 5 мкм в сечении видны выходы на поверхность зуба отдельных кристаллитов диаметром 50–80 нм (рис. 2б) и поперечные сечения отдельных борозд. Кроме этого, в ряде случаев на поверхности наблюдались неоднородности типа трещин, длиной до 50

мкм, шириной 1–2 мкм и глубиной более 3 мкм (3 на рис. 1) (глубже «заглянуть» с помощью АСМ сложно), и неоднородности с четко очерченными краями, которые выступают над поверхностью эмали (4 на рис. 1).

Неоднородности типа трещин и неоднородности, выступающие над первичной поверхностью эмали, могут стать зоной риска для первичной адгезии микроорганизмов. Именно этот факт может определять взаимодействие строения поверхности эмали и возникновения воспалительных заболеваний пародонта (ВЗП). Поэтому в данной работе основное внимание было уделено именно этим неоднородностям. В результате проведенных исследований было выявлено, что размеры неоднородностей эмали зависят от исследуемой поверхности зуба (вестибулярная, язычная или контактная), и в большинстве случаев их количество увеличивается при удалении от режущего края зуба. Поэтому во всех приведенных результатах исследований приводится информация о том, какая поверхность зуба исследовалась и расстояние области исследования от режущего края —  $\Delta x$ . В частности, на рис. 3 приведены результаты исследований эмали вестибулярной поверхности резца при разрешении 100 на 100 мкм, выполненные при  $\Delta x = 7$  мм. Для более наглядной визуализации результатов на этом рисунке приведена картина двумерного (2D) распределения и ее сечение (1D), выполненное по приведенной выше линии.

В этом случае, по сравнению с теми вариантами, что приведены на рисунке 1, на поверхности резца наблюдается значительно больше неоднородностей типа трещин. При этом форма, размеры и глубина этих трещин различна. В некоторых случаях глубина достигает 4 мкм. Необходимо заметить, что особенности АСМ практически не позволяют исследовать области, глубже расположенные под поверхностью. К тому же мы не сможем «увидеть» трещину на всю глубину, если она проходит под углом, даже незначительно отличающимся от перпендикуляра к исследуемой поверхности.

Аналогичные неоднородности наблюдаются и на язычной поверхности резца. В частности, на рисунке 4

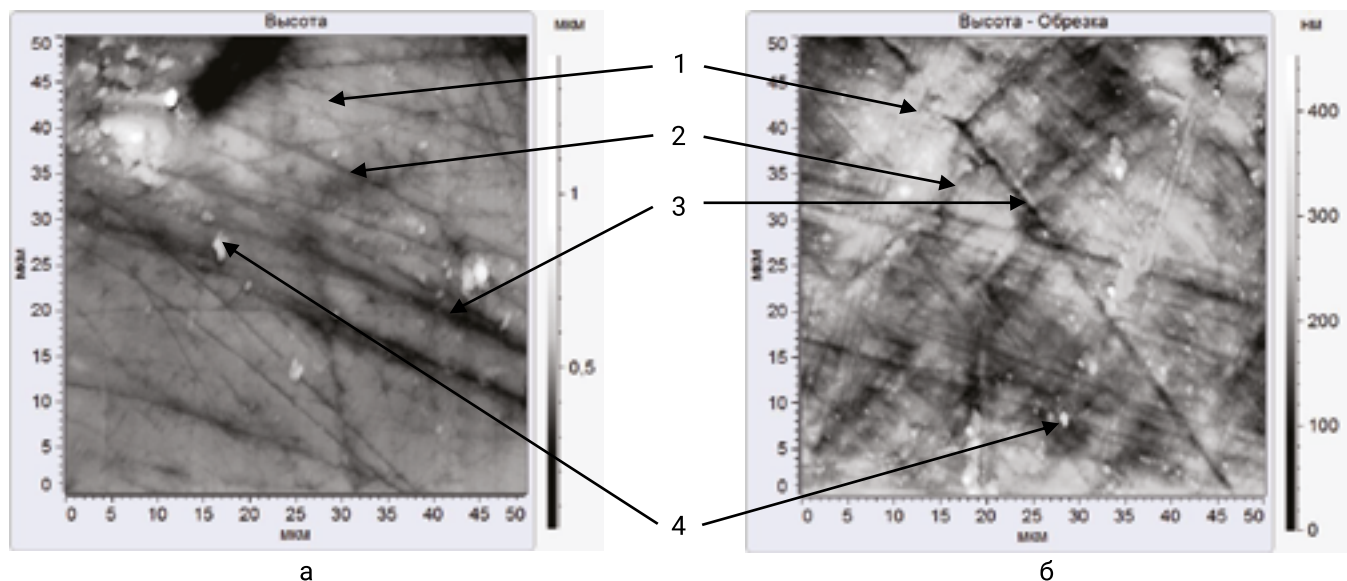
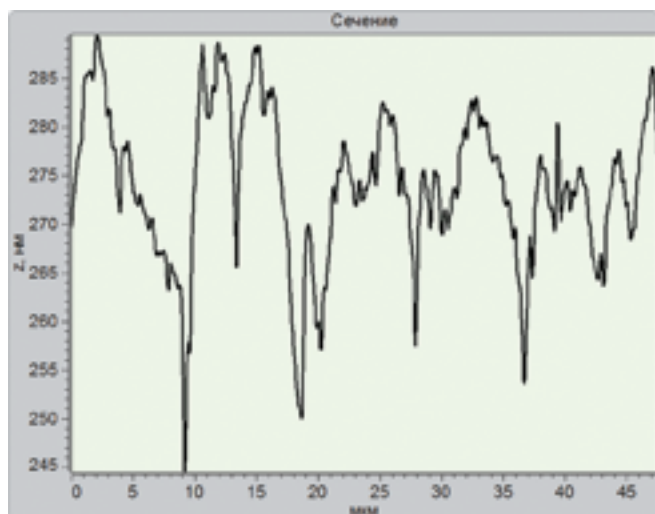


Рис. 1. Результаты сканирования поверхностей резцов

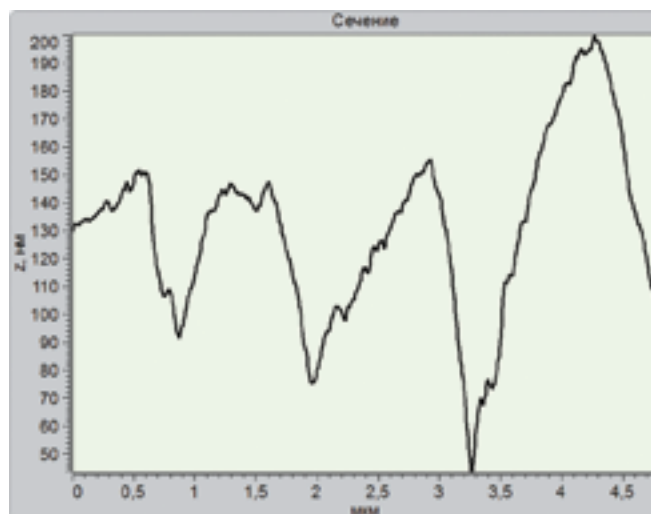
приведены результаты АСМ-исследований язычной поверхности эмали резца. При рассмотрении выбранных участков в разрешении 50 x 50 мкм в режиме 3D-визуализации определялся линейный дефект в виде трещин. Глубина этих трещин не менее 3 мкм, ширина 1,5–2,0 мкм. Вокруг них определялась бугристая поверхность. На рисунке 4 наблюдаются также неоднородности в виде округлых «чешуек», которые располагались несколько ниже основного уровня. Диаметр их составлял 5–7 мкм, по периферии имелись неглубокие, разграничивающие их борозды. Судя по относительно регулярному расположению этих борозд, они ограничивали эмалевые призмы. Аналогичные округлые «чешуйки» наблюдались и в других исследованных областях. В частности, на рисунке 5 приведены результаты

сканирования вестибулярной поверхности эмали резца при разрешении 50 x 50 мкм, на расстоянии 4 мм от режущего края.

При разрешении 25 x 25 мкм на поверхности эмали резца определяются ряд четко выраженных неоднородностей, выступающих над поверхностью эмали на 0,2–1,2 мкм. Их расположение помечено стрелками на рисунке 6а. При визуализации этого же участка в режиме фазового контраста эти же округлые неоднородности выделялись по цвету, что свидетельствует об отличии физических свойств этих объектов. Применение методики фазового контраста (сравнение высоты и фазы) при полуконтактном режиме работы АСМ позволяет говорить, что на поверхности присутствуют частицы разного состава. Часть частиц,



а



б

Рис. 2. Поперечные сечения исследованных поверхностей резцов при разрешении 50 и 5 мкм

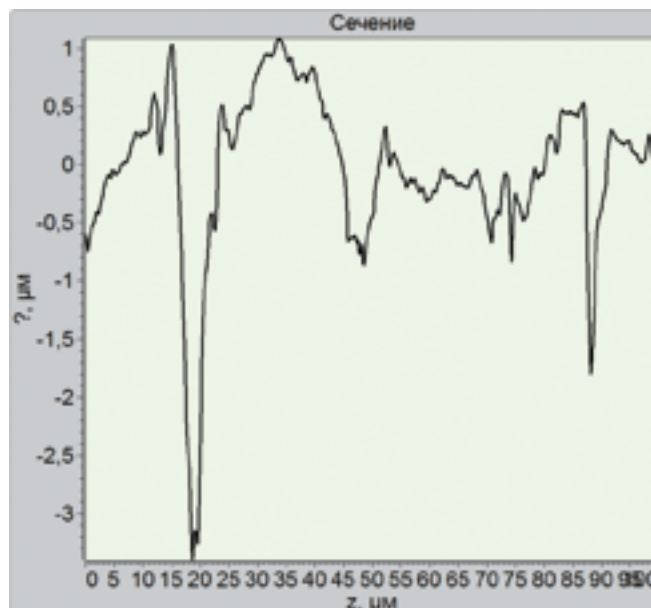
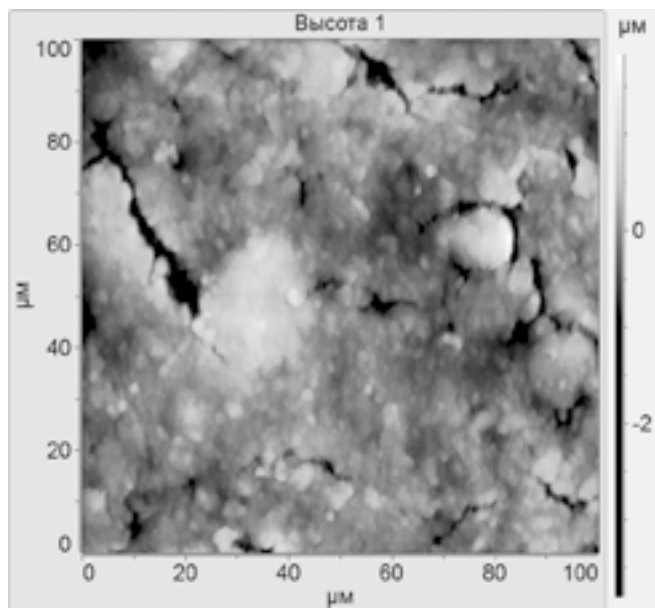


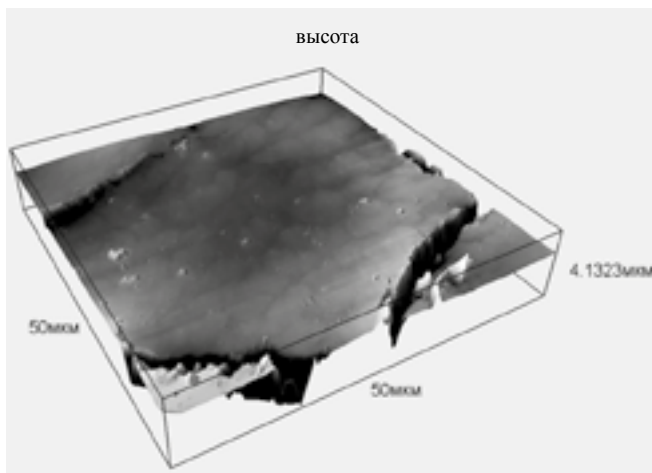
Рис. 3. Результаты исследования эмали вестибулярной поверхности резца при разрешении 100 на 100 мкм ( $\Delta x = 7$  нм)

состав которых отличается от кристаллитов гидроксиапатита, встраиваются в структуру эмали. Наблюдаемые же на поверхности эмали углубления не связаны с наличием частиц другого состава, то есть связаны с процессами в самой эмали.

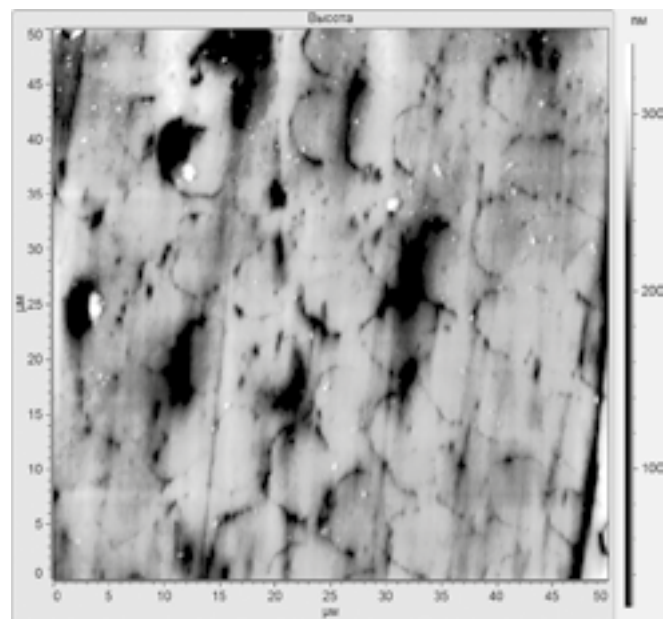
О наличии и размерах неоднородностей поверхности удобно судить с помощью функции распределения точек по высоте, которая показывает относительное распределение точек сканирования на разном расстоянии от средней плоскости. Результаты расчета этой функции для сканированной эмали вестибулярной поверхности резца приведены на рисунке 7. Судя по приведенным результатам вестибулярная поверхность резца ровная с максимальным перепадом высот 0,3 мкм для  $\Delta x = 5$  мм и 0,5 мкм для  $\Delta x$

= 2 мм. Диапазон изменения высоты, в который попадает 50% точек исследованной вестибулярной поверхности  $\Delta z$ , изменяется не существенно (0,09 мкм для  $\Delta x = 2$  мм, 0,12 мкм для  $\Delta x = 5$  мм и 0,14 мкм для  $\Delta x = 8$  мм).

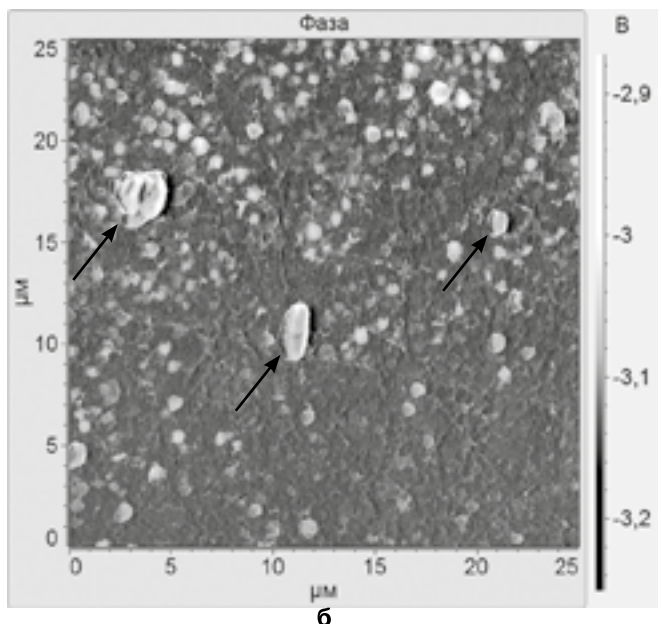
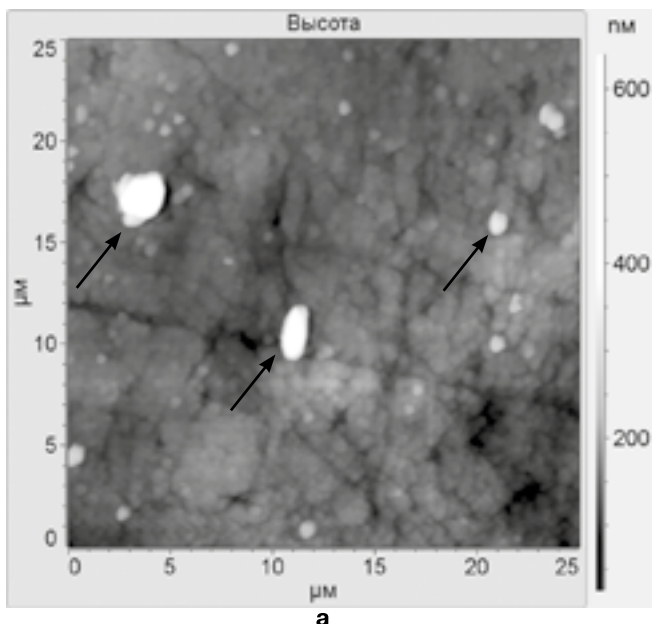
Вероятность прикрепления микроорганизмов в этом случае практически равна нулю. Для случая  $\Delta x = 8$  мм основная часть поверхности относительно ровная. Однако в этом случае наблюдается большое количество точек, расположенных под поверхностью эмали ( $z_1$  на рис. 7). Причем глубина расположения этих точек более 0,5 мкм.



**Рис. 4. Результаты сканирования язычной поверхности эмали резца в режиме 3D-визуализации, разрешение 50 x 50 мкм.  $\Delta x = 8$  мм**



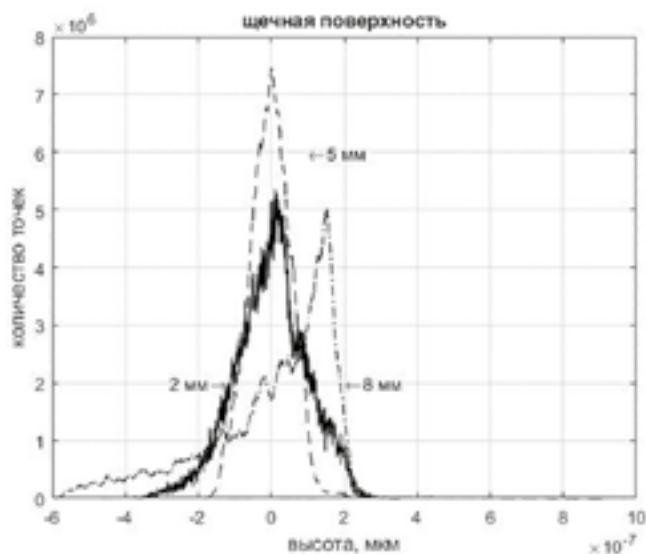
**Рис. 5. Результаты сканирования вестибулярной поверхности эмали резца, разрешение 50 x 50 мкм,  $\Delta x = 4$  мм**



**Рис. 6. Результаты сканирования с помощью АСМ вестибулярной поверхности эмали резца методом 2D-визуализации (а) и методом фазового контраста (б), разрешение 25 x 25 мкм**

В подобных углублениях весьма вероятно адгезия микроорганизмов. Аналогичные картины распределения точек в зависимости от расстояния  $\Delta x$  наблюдаются для язычной и для контактных поверхностей. То есть во всех исследованных случаях адгезия на вестибулярной поверхности наименее вероятна.

Особенно ярко выражена неоднородность контактных поверхностей резцов (рис. 8). Здесь диапазон  $\Delta z$  оказыва-



**Рис. 7. Функция распределения точек по высоте для сканированной эмали вестибулярной поверхности резца**

ется на порядок больше, чем для вестибулярной и язычной поверхностей. То есть практически на всех контактных поверхностях резца адгезия микроорганизмов оказывает-ся весьма вероятна.

Таким образом, по результатам проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Характер и линейные размеры неоднородностей эмали существенно отличается на различных (язычной, контактных и вестибулярной) поверхностях резцов.
2. При проведении исследований на многих образцах были обнаружены неоднородности типа разломов глубиной более 3 мкм, шириной 2–5 мкм и длиной от 20 до 150 мкм. Размер подобных неоднородностей и их количество увеличиваются при удалении от режущего края.
3. На поверхности эмали присутствуют частицы, некоторые из которых встраиваются в структуру эмали, состав которых отличается от кристаллитов гидроксиапатита, что требует дальнейшего углубленного исследования.
4. Наибольшие размеры неоднородностей отмечались на контактных поверхностях. При этом размеры углублений на этих поверхностях достигают нескольких мкм, что вполне достаточно для адгезии микроорганизмов в этих неоднородностях.

5. Необходимо разработать новые алгоритмы профессиональной и индивидуальной гигиены полости рта с применением методов и средств, эффективно очищающих выявленные неоднородности (зоны риска) эмали резцов.



**Рис. 8. Функция распределения точек по высоте для сканированной эмали контактной поверхности резца**

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гончаров В.Д., Орехова Л.Ю., Лукавенко А.А., Нарушак Н.С. Возможность применения метода атомно-силовой микроскопии для исследования твердых тканей зубов как фактора прогнозирования развития кариеса и заболеваний пародонта. // Пародонтология. 2018. № 2 (87). С. 71-74.  
Goncharov V.D., Orekhova L.YU., Lukavenko A.A., Narushak N.S. Vozmozhnost' primeneniya metoda atomno-silovoj mikroskopii dlya issledovaniya tverdykh tkanej zubov kak faktora prognozirovaniya razvitiya kariesa i zabolevanij parodonta. // Parodontologiya. 2018. № 2 (87). S. 71-74.
2. Мандра Ю.В. Повышенная стираемость твердых тканей зуба: ранние клинические проявления, морфоструктурные проявления, лечебно-профилактические методы коррекции: Автореф. дисс. ... д.м.н. – Екатеринбург, 2011. – 50 с.  
Mandra YU.V. Povyshennaya stiraemost' tverdykh tkanej zuba: rannye klinicheskie proyavleniya, morfostrukturnye proyavleniya, lechenno-profilakticheskie metody korrektsii: Avtoref. diss. ... d.m.n. – Ekaterinburg, 2011. – 50 s.
3. Мошников В. А., Спивак Ю. М., Алексеев В. А., Пермяков Н. В. Атомно-силовая микроскопия для исследования наноструктурированных материалов и приборных структур: Учеб. пособие. – СПб.: Изд-во СПбГЭТУ «ЛЭТИ», 2013. – 140 с.  
Moshnikov V. A., Spivak Yu. M., Alekseev V. A., Permyakov N. V. Atomno-silovaya mikroskopiya dlya issledovaniya nanostrukturirovannykh materialov i pribornyykh struktur: Ucheb. posobie. – SPb.: Izd-vo SPbGETU «LETI», 2013. – 140 s.
4. Садковская С. А. Изучение распространенности и интенсивности кариеса зубов у детей г. Хабаровск // Фундаментальные исследования. 2005. №4. С. 49-50.

Sadkovskaya S. A. Izuchenie rasprostranennosti i intensivnosti kariesa zubov u detej g. Habarovsk // Fundamental'nye issledovaniya. 2005. №4. S. 49-50.

5. Шумилов Б. Р., Воробьева Ю. Б., Малихина И. Е., Чертовских А. В. Современные представления о кристаллической структуре гидроксипатита и процессах возрастных изменений эмали зуба // Журнал анатомии и гистопатологии. 2015. Т. 4. №1. С. 77-86.

Shumilovich B. R., Vorob'eva Yu. B., Malykhina I. E., Chertovskih A. V. Sovremennye predstavleniya o kristallicheskoj strukture gidroksiapatita i processah vozrastnyh izmenenij ehmal zuba // Zhurnal anatomii i gistopatologii. 2015. T. 4. №1. S. 77-86.

6. Якубова И. И., Остряко В. И., Тиньков В. А. Рентгеноспектральный анализ в изучении структуры эмали на этапах ее формирования и вторичной минерализации // Bulletin of Medical Internet Conferences (ISSN 2224-6150). 2015. Vol. 5. Issue 11. С. 1404-1407.

Yakubova I. I., Ostryanko V. I., Tin'kov V. A. Rentgenospektral'nyj analiz v izuchenii struktury ehmal na etapah ee formirovaniya i vtorichnoj mineralizacii // Bulletin of Medical Internet Conferences (ISSN 2224-6150). 2015. Vol. 5. Issue 11. S. 1404-1407.

7. Яминский И. В., Горелкин П. В., Ерофеев А. С., Синицына О. В., Мешков Г. Б. Сканирующая зондовая микроскопия как главный инструмент бионаноскопии // Медицина и высокие технологии. 2014. №2. С. 11-26.

Yaminskij I.V., Gorelkin P.V., Erofeev A.S., Sinicya O.V., Meshkov G.B. Skaniruyushchaya zondovaya mikroskopiya kak glavnyj instrument bionanoskopii // Medicina i vysokii tekhnologii. 2014. № 2. S. 11-26.

8. Янушевич О. О., Гринин В. М., Почтаренко В. А., Рунова Г. С. и др. Заболевания пародонта. Современный взгляд на клинко-диагностические и лечебные аспекты. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. — 160 с.

Yanushevich O. O., Grinin V. M., Pochtarenko V. A., Runova G. S. i dr. Zabolevaniya parodonta. Sovremennyy vzglyad na kliniko-diagnosticheskie i lechebnye aspekty. — M.: GEOTAR-Media, 2010. — 160 s.

9. Teles R. P., Patel M., Socransky S. S., Haffajee A. D. Disease progression in periodontally healthy and maintenance subjects // J Periodontol. 2008. №79 (5). P. 784-794.

**Поступила 12.07.2018**

*Координаты для связи с авторами:*

197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 5

E-mail: alina812ru@gmail.com

## ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ

В журнале публикуются статьи практикующих врачей-стоматологов и научных сотрудников, подготовленные по материалам оригинальных научных исследований и клинических наблюдений, а также тематические обзоры литературы.

К публикации принимаются только оригинальные статьи, то есть те печатные материалы, которые не были ранее опубликованы либо одновременно направлены в другие печатные издания.

Для получения авторских экземпляров автор должен оформить годовую подписку на журнал, в котором размещена его статья.

Оплата подписки и журналов производится до публикации статьи.

### ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ И ТЕМАТИЧЕСКИЕ ОБЗОРЫ, ПРИНИМАЕМЫЕ К ПУБЛИКАЦИИ, ДОЛЖНЫ ОБЯЗАТЕЛЬНО ИМЕТЬ:

1. **Название статьи на русском и английском языках:** 10–12 слов, которые содержат основные ключевые слова, нельзя использовать аббревиатуру, формулы, торговые названия.
2. **Резюме / Abstract** (150–250 слов) на двух языках (русском и английском).
3. **Ключевые слова** (6–8 слов) на русском и английском языках.
4. **Фамилии, инициалы авторов** — на русском и английском языках, информацию о должностях и научных званиях. Название организации, которое должно совпадать с названием в Уставе, город, страна. Максимальное количество авторов — пять человек.

### 5. В статье должны быть следующие пункты:

- основные положения/ Highlights — содержат 3–5 пунктов маркированного списка, кратко отражающие ключевые результаты исследования
- актуальность темы исследования / the relevance of the research topic;
- цель / purpose;
- материалы и методы / methods;
- результаты / results;
- выводы / summary.

6. **Список литературы / References** — минимум 10 ссылок. Список надо дополнять зарубежными источниками — их должно быть не менее половины от числа отечественных. Все русскоязычные ссылки литературы должны быть дополнительно транслитерированы! (Рекомендуем использовать транслитератор на сайте [www.translit.ru](http://www.translit.ru)).

#### Пример транслитерации ссылок:

Адамян А. А., Лизанец М. Н., Добыш С. В. и др. Результаты лабораторного исследования порошкообразных медицинских сорбентов и перспективы их использования в хирургии // Вестник хирургии им. Грекова. 1991. № 7–8. С. 37–41.

Adamyan A. A., Lizanets M. N., Dobysh S. V. i dr. Rezultaty laboratornogo issledovaniya poroshkoobraznyh meditsinskih sorbentov i perspektivy ih ispolzovaniya v hirurgii // Vestnik hirurgii im. Grekova. 1991. № 7–8. S. 37–41.

При составлении списка литературы необходимо включать не менее трех ссылок на статьи, опубликованные в журналах издательства «Поли Медиа Пресс» («Пародонтология», «Стоматология детского